



Inga Hänel

Jahrgang 1980. 2000–2006 Biologie- und Lehramtsstudium an der Universität Osnabrück. 2006–2010 Dissertation in der dortigen Abteilung Mikrobiologie unter der Leitung von Prof. Dr. Bakker. Seit 2010 Postdoc bei Prof. Dr. Slotboom in der Abteilung „Membrane Enzymology“ an der Rijksuniversiteit Groningen, Niederlande.

VAAM-Promotionspreis 2011

K⁺-Transportsystem KtrAB: Flexibles Tor kontrolliert Kaliumionenfluss

INGA HÄNELT

ABTEILUNG BIOCHEMIE, UNIVERSITÄT GRONINGEN, NIEDERLANDE

■ Kalium ist das bedeutendste einwertige Kation in biologischen Systemen. Es dient unter anderem der pH-Homöostase und Osmoadaptation in Zellen aller Lebewesen. Um auf Änderungen der Umgebung schnell und kontrolliert reagieren zu können, muss die Zelle Kaliumionen (K⁺) gezielt mittels Kanälen, Pumpen und Transportern über die Membran bewegen. Die K⁺-translozierenden Untereinheiten einiger K⁺-Aufnahmesysteme werden aufgrund hoher Homologien zueinander in der Superfamilie der Kaliumionen-Transporter (SKT) zusammengefasst. Sie alle haben sich vermutlich durch Genverdopplung und -fusion aus einfachen K⁺-Kanälen des M₁PM₂ (Membrandurchgang 1-Porenschleife-Membrandurchgang 2)-Typs wie KcsA entwickelt. Während KcsA ein K⁺-Kanal ist, werden sämtliche SKT-Mitglieder als aktive K⁺-(bzw. Na⁺-) Transporter beschrieben. Durch Sequenzvergleiche zwischen den SKT-Proteinen und KcsA wurde der Membrandurchgang M_{2C} (M₂ des dritten MPM-Motivs) als mögliche transporterspezifische Struktur identifiziert. Bei SKT-Proteinen, die als funktionelles Transportsystem weitere regulatorische Untereinheiten besitzen, ist dieser Durchgang mit rund 40 Aminosäuren deutlich länger als übliche membrandurchspannende α -Helices. Außerdem besitzt er viele kleine und polare Aminosäuren wie Glycin, Serin und Alanin [1]. Auch KtrB, das SKT-Protein des prokaryoti-

schen K⁺-Transportsystems KtrAB, weist diesen Membrandurchgang auf. Frühere Modellierungsversuche an KtrB haben gezeigt, dass zwar der erste (M_{2C1}) und der letzte (M_{2C3}) Teil als α -Helices modelliert werden können, der mittlere Teil (M_{2C2}) aber eher eine entfaltete Struktur annimmt. Ein Modell zeigt diesen Teil als flexible Schleife innerhalb der Kavität des Proteins [1]. Um diese Hypothese zu untersuchen, wurden KtrB-PhoA-Fusionsstudien durchgeführt, die eine flexible Struktur von M_{2C2} bestätigten. Anschließende Punktmutationen und Deletionen in M_{2C2} führten in K⁺-Aufnahmestudien in *Escherichia coli* zu einer stark erhöhten Transportgeschwindigkeit für Kaliumionen, aber auch zu Wachstumseinschränkungen der Zellen bei hohen Kaliumkonzentrationen [2]. Die aus diesen Ergebnissen resultierende Annahme, dass M_{2C2} ein den K⁺-Fluss kontrollierendes Tor innerhalb des Proteins bildet, wurde durch Elektronenspinresonanzspektroskopie (ESR) an ortsspezifisch spinmarkierten, in Liposomen rekonstituierten KtrB-Varianten bestätigt. Eine Kombination aus Messungen einfach spinmarkierter Varianten und Abstandsmessungen an zweifach spinmarkierten Varianten zeigte, dass die Schleife in Abwesenheit von Kalium die Kavität durchspannt und so den Durchgang von Kaliumionen verhindert (Abb. 1A). In Anwesenheit von Kalium richtet sich M_{2C2} dagegen paral-

lel zum übrigen Membrandurchgang aus und ermöglicht so den Durchfluss des Kaliumions (Abb. 1B, [3]). Eine solche regulatorische Schleife tritt nicht in Kaliumkanälen auf, sondern scheint stattdessen eine für K⁺-Transporter spezifische Struktur darzustellen. Diese Annahme wurde kürzlich durch eine Röntgenkristallstruktur von TrkH, einem weiteren SKT-Protein, bestärkt [4].

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem „Doktorvater“ Evert Bakker sowie Dorith Wunnicke und Prof. Dr. Heinz-Jürgen Steinhoff vom Fachbereich Physik für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Durchführung der ESR-Messungen. Darüber hinaus bedanke ich mich herzlich bei allen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppen Bakker und Altmendorf der Universität Osnabrück sowie der Arbeitsgruppe Poolman der Universität Groningen für die vielseitige Unterstützung. ■

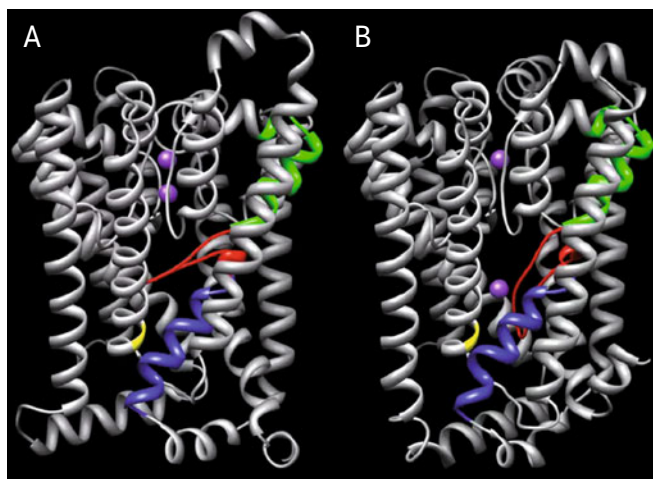
Literatur

- [1] Durell SR, Guy HR (1999) Structural models of the KtrB, TrkH, and Trk1,2 symporters based on the structure of the KcsA K(+) channel. *Biophys J* 77:789–807
- [2] Hänel I, Löchte S, Sundermann L et al. (2010) Gain of function mutations in membrane region M_{2C2} of KtrB open a gate controlling K⁺ transport by the KtrAB system from *Vibrio alginolyticus*. *J Biol Chem* 285:10318–10327
- [3] Hänel I, Wunnicke D, Müller-Trimbusch M et al. (2010) Membrane region M_{2C2} in subunit KtrB of the K⁺ uptake system KtrAB from *Vibrio alginolyticus* forms a flexible gate controlling K⁺ flux: an electron paramagnetic resonance study. *J Biol Chem* 285:28210–28219
- [4] Cao Y, Jin X, Huang H et al. (2011) Crystal structure of a potassium ion transporter, TrkH. *Nature* 417:336–340

Korrespondenzadresse:

Dr. Inga Hänel
University of Groningen
Dept. of Biochemistry
Nijenborgh 4
NL-9747 AG Groningen
Tel.: +31-(0)50-363-4386
Fax: +31-(0)50-363-4165
i.haenelt@rug.nl

Die VAAM dankt den Sponsoren der diesjährigen Promotionspreise:
BASF SE, Sanofi-Aventis Deutschland,
New England Biolabs GmbH, Bayer Schering
Pharma AG, Evonik Degussa GmbH



◀ **Abb. 1:** Schematische Darstellung zweier KtrB-Modelle. **A**, Geschlossene Struktur von KtrB. **B**, Offene Struktur von KtrB. M_{2C1} (grün) und M_{2C3} (blau) durchspannen die Membran als α -Helices, während M_{2C2} (rot) ein flexibles Tor innerhalb der Kavität ausbildet.

Je zwei Kaliumionen sind lila dargestellt. Das Periplasma ist oben, das Zytoplasma unten.